

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
24. Februar 2005 (24.02.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2005/017166 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C12N 15/67, C12P 21/02, C12N 1/21 // (C12N 1/21, C12R 1:19)**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/008469

(22) Internationales Anmeldedatum:  
27. Juli 2004 (27.07.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
103 36 705.5 6. August 2003 (06.08.2003) DE

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): **RINA NETZWERK RNA-TECHNOLOGIE GMBH [DE/DE]**; Takustrasse 3, 14195 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): **GERRITS, Michael [DE/DE]**; Takustrasse 3, 14195 Berlin (DE). **STREY, Jan [DE/DE]**; Takustrasse 3, 14195 Berlin (DE). **STIEGE, Wolfgang [DE/DE]**; Takustrasse 3, 14195 Berlin (DE).

(74) Anwälte: **JUNGBLUT, Bernhard usw.; Albrecht, Lüke & Jungblut, Gelfertstr. 56, 14195 Berlin (DE)**.

(81) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR THE PRODUCTION OF A LYSATE USED FOR CELL-FREE PROTEIN BIOSYNTHESIS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG EINES LYSATES ZUR ZELLFREIEN PROTEINBIOSYNTHESSE

**WO 2005/017166 A1**

(57) **Abstract:** The invention relates to a method for producing a lysate used for cell-free protein biosynthesis, comprising the following steps: a) a genomic sequence in an organism, which codes for an essential translation product that reduces the yield of cell-free protein biosynthesis, is replaced by the foreign DNA located under a suitable regulatory element, said foreign DNA coding for the essential translation product that additionally contains a marker sequence; b) the organism cloned according to step a) is cultivated; c) the organisms from the culture obtained in step b) are lysed; and d) the essential translation product is eliminated by means of a separation process that is selective for the marker sequence. Also disclosed are said lysate and the use thereof.

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung lehrt ein Verfahren zur Herstellung eines Lysates zur zellfreien Proteinbiosynthese mit den folgenden Verfahrensschritten: a) Austausch einer für ein essentielle, jedoch die Ausbeute einer zellfreien Proteinbiosynthese reduzierendes Translationsprodukt codierenden genomischen Sequenz in einem Organismus gegen die unter einem geeigneten regulatorischen Element stehenden fremden DNA, wobei die fremde DNA für das essentielle Translationsprodukt, jedoch zusätzlich enthaltend eine Markersequenz codiert, b) Kultivieren des gemäß a) klonierten Organismus, c) Lyse der Organismen aus der Kultur nach b) und d) Abtrennung des essentiellen Translationsproduktes mittels eines für die Markersequenz selektiven Trennverfahrens sowie das Lysat und dessen Verwendung.